altona DIAGNOSTICS

altona Diagnostics GmbH
Mörkenstr. 12
22767 Hamburg
Germany

phone +49 40 548 06 76 - 0
fax +49 40 548 06 76 - 10
e-mail info@altona-diagnostics.com

www.altona-diagnostics.com

altona DIAGNOSTICS

RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0

07/2015

RealStar®

WNV
RT-PCR Kit 1.0

Pour utilisation avec

Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)

VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens)

ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)

LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

Rotor-Gene® 3000/6000 (Corbett Research)

Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)

CE

IVD Usage de diagnostic *in vitro*

REF Référence: 321013

Σ 96 tests

Conserver à -25°C ... -15°C

Juillet 2015

altona Diagnostics GmbH • Mörkenstraße 12 • D-22767 Hamburg

MAN-321010-FR-01

Sommaire

1. Usage prévu 6

2. Composants du kit 6

3. Conservation 6

4. Matériels requis non fournis 7

5. Informations générales 8

6. Description du produit 9

7. Mises en garde et précautions 11

8. Mode d'emploi 12
8.1 Pré-traitement des échantillons 12
8.2 Extraction de l'ARN 12
8.3 Préparation du Mastermix 14
8.4 Préparation de la réaction 16

9. Programmation des instruments de PCR en temps réel 17
9.1 Paramètres 17
9.2 Marqueurs de fluorescence (fluorophores) 17
9.3 Profil de température et acquisition du fluorophore 18

10. Analyse des données 18
10.1 Validité du test de diagnostic 19
10.1.1 Test de diagnostic valide (qualitatif) 19
10.1.2 Test de diagnostic invalide (qualitatif) 19
10.2 Interprétation des résultats 20

11. Evaluation des performances 21
11.1 Sensibilité analytique 21
11.2 Spécificité analytique 22
11.3 Précision 24
11.4 Répétabilité 26

12. Limites et précautions 27

13. Contrôle de qualité 28

14. Assistance technique 28

15. Marques déposées et responsabilité 28

16. Explications des symboles 29

1. Usage prévu

Le kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 est un test de diagnostic *in vitro* qualitatif, basé sur la technologie RT-PCR en temps réel, pour la détection et la différencation de l'ARN spécifique du virus West Nile (WNV) .

2. Composants du kit

Couleur du couvercle	Bleu	Violet	Vert	Rouge	Blanc
Composants	Master A	Master B	Internal Control [1]	Positive Control [2]	PCR grade water [3]
Nb de tubes	8	8	1	1	1
Volume [µl/tube]	60	240	1000	625	500

[1] Contrôle interne (IC)

[2] Contrôle positif

[3] Eau ultra-pure pour biologie moléculaire

3. Conservation

- Le kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 est expédié sous glace carbonique. Les composants du kit doivent arriver congelés. Si un ou plusieurs composants ne sont pas congelés á la réception, ou si l'un des tubes a été endommagé pendant le transport, merci de contacter altona Diagnostics GmbH pour assistance.
- Tous les composants doivent être conservés à -25°C ... -15°C dès leur livraison.

- Il convient d'éviter des cycles répétés de congélation-décongélation (plus de deux) car cela peut affecter les performances du test. Les réactifs doivent être congelés en aliquote en cas d'utilisation occasionnelle.
- La conservation à +4°C ne doit pas excéder une période de deux heures.
- Le Master A et le Master B doivent être conservés à l'abri de la lumière.

4. Matériels requis non fournis

- Instrument adapté à la PCR en temps réel (Chapitre 6: Description du produit)
- Système ou kit approprié à l'extraction des acides nucléiques
- Centrifugeuse de paillasse avec rotor pour tubes réactionnels de 2 mL
- Centrifugeuse avec rotor pour microplaques, si des plaques de 96 puits de réaction sont utilisées
- Vortex
- Plaques de 96 puits ou tubes de réaction avec matériel de fermeture (optique) correspondant
- Pipettes (réglables)
- Cônes avec filtres (jetables)
- Gants non talqués (jetables)

NOTE

⚠ ***Merci de vous assurer que les instruments ont été installés, calibrés, vérifiés et entretenus selon les instructions et les recommandations du fabricant.***

5. Informations générales

Le virus du Nil occidental est une espèce virale qui appartient à la famille *Flaviviridae*. Le génome d'ARN des flavivirus est simple brun et a une polarité positive [(+) ssRNA]. Les gènes sont tous localisés sur un segment simple d'environ 9 - 12 Ko de longueur. La région 5' des génomes contient des séquences spécifiques qui se replient dans des conformations relativement stables. Ces séquences de récepteurs ribosomales permettent la traduction directe et la synthèse des protéines par les ribosomes de l'hôte.

Le virus du Nil occidental est transmis par des vecteurs arthropodes (différents moustiques des genres *Culex*, *Aedes* ou *Ochlerotatus*). Il peut infecter une variété d'espèce hôte différente comme des chevaux, des oiseaux et finalement des humains. Le virus a été d'abord identifié en 1937 en Ouganda et depuis, il a été continuellement trouvé chez des oiseaux, des chevaux et chez l'homme en Afrique, en Moyen-Orient et en Europe du Sud. En 1999 le virus a atteint l'Amérique du Nord. Un moustique portant le virus a été probablement apporté d'Israël à New York. Plusieurs épidémies aux USA ont été enregistrées depuis.

Dans la plupart des cas (70-80 %), l'infection est asymptomatique chez les humains. Dans le cas de fièvre symptomatique avec d'autres signes et des symptômes comme le mal de tête, les douleurs articulaires, vomissement et d'autres maladies non spécifiques peuvent être observées. Dans peu de cas, autour de 1% de toutes les infections, des complications neurologiques graves se produiront. En conséquence, les patients développent des maux de tête graves, un torticolis, un coma ou une paralysie. 10% de ces patients mourront en raison de l'infection avec WNV.
Il n'y a aucun traitement spécifique disponible pour guérir des infections WNV. Des médicaments pour réduire la fièvre et la douleur peuvent être administrés et les cas sévères recevront un traitement de soutien et ils pourront être hospitalisés.

Le virus peut être détecté à partir des 2-3èmes jours jusqu'à 14-19èmes jours post-infection dans le sérum/plasma des patients. De façon intéressante, la détection de l'ARN viral dans l'urine est possible même après qu'il ait disparu du sang. La sérologie est difficile car les anticorps croisent avec d'autres flavivirus. Les IgM et les IgG peuvent être détectés chez les patients 4-8 jours après la détection du virus dans le sang. Le test de sérologique le plus spécifique est le test de neutralisation de réduction de plaque mais ceci exige une culture virale et peut seulement être exécuté par des laboratoires experts.

La détection de l'ARN viral est principalement réalisée dans deux buts différents. Premièrement, la RT-PCR est exécutée sur les échantillons de cas soupçonnés pour faire le diagnostic *in vitro*. Ici, la charge virale est d'habitude élevée et la limite de détection de l'essai est une préoccupation mineure. Deuxièmement, dans des zones où WNV est endémique, la transmission du virus est arrivée par la transfusion de sang. Donc, le dépistage de sécurité des dons du sang devrait être fait et pour cela, une sensibilité très élevée est nécessaire.

6. Description du produit

Le kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0, basé sur la technologie de PCR en temps réel, est un test de diagnostic *in vitro* conçu pour la détection de l'ARN spécifique du virus West Nile. Le kit comprend un système d'amplification hétérologue (contrôle interne, *internal control (IC)*) afin d'identifier d'éventuelles inhibitions de la PCR et de confirmer l'intégrité des réactifs du kit.

Le test repose sur la technologie de RT-PCR en temps réel, utilisant une transcriptase inverse (RT) qui permet de convertir de l'ARN en ADN complémentaire (ADNc) et une réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) pour l'amplification de séquences cibles spécifiques, ainsi que des sondes spécifiques à ces cibles pour la détection de l'ADN amplifié. Les sondes sont marquées par un reporter fluorescent et un quencher.

Les sondes spécifiques à l'ARN du West Nile sont marquées par le fluorophore FAM. La sonde spécifique au contrôle interne (IC) est marquée par le fluorophore JOE. L'utilisation de sondes associées à des fluorophores différents permet la détection en parallèle de l´ARN spécifique du West Nile et du contrôle interne dans les canaux correspondants de l'instrument de PCR en temps réel.

En raison de l'assemblement moléculaire et de l'évolution possible du Virus WNV, il y a un risque inhérent, pour n'importe quel test basé sur le système de RT-PCR, que cette accumulation de mutations puisse mener à des résultats faussement négatifs, au fil du temps. L'essai a été conçu pour minimiser les mutations possibles prochaines. Néanmoins, dans le cas où les souches circulantes évoluent et accumulent des mutations une mise à jour de l'ensemble des amorces/sondes pourraient être nécessaires.

Le test consiste en trois processus réalisés dans un même tube réactionnel:

- transcription inverse de l'ARN cible pour générer des ADNc
- l'amplification par PCR de l'ADN cible et du contrôle interne (IC)
- la détection simultanée des amplicons par des sondes marquées par fluorescence

Le kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 a été développé et validé pour être utilisé avec les instruments de PCR en temps réel suivants:

- Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
- VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)
- Rotor-Gene® 3000/6000 (Corbett Research)
- Rotor-Gene® Q 5/6 plex Platform (QIAGEN)

Le kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 est composé de:

- Deux Masters (Master A et Master B)
- Un contrôle interne (IC)
- Un contrôle positif
- De l'Eau ultra-pure (pour biologie moléculaire)

Les réactifs du Master A et du Master B contiennent tous les composants nécessaires (tampon, enzymes, amorces, sondes) afin de réaliser en une seule étape la transcription inverse, l'amplification par PCR et la détection spécifique de la cible (ARN spécifique du virus WNV) ainsi que le contrôle interne (IC).

7. Mises en garde et précautions

- L'utilisation de ce produit est limitée au personnel qualifié et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic *in vitro*.
- Manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et/ou dangereux, en accord avec les procédures de sécurité en vigueur dans le laboratoire.
- Porter des gants jetables non talqués, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
- Eviter les contaminations microbiennes et nucléaires (par ADNase/ARNase) de l'échantillon et des composants du kit.
- Toujours utiliser des pipettes à cônes jetables avec filtre, non contaminées par de l'ADNase et de l'ARNase.
- Toujours porter des gants de protection non talqués lors de la manipulation des composants du kit.
- Utiliser des zones de travail séparées les unes des autres pour les différentes activités de (i) préparation des échantillons, (ii) préparation de la réaction et (iii) les étapes d'amplification/détection. Le sens de travail dans le laboratoire doit être unidirectionnel. Porter des gants dans chaque zone de travail et les changer avant d'entrer dans une zone différente.
- Dédier des fournitures et du matériel pour chaque zone de travail et ne pas les déplacer d'une zone à une autre.
- Conserver le matériel positif et/ou potentiellement positif séparément des autres composants du kit.
- Ne pas ouvrir les tubes/plaques de réaction après l'amplification afin d'éviter toute contamination par les amplicons.
- Des témoins additionnels peuvent devoir être testés selon les directives des organisations locales/gouvernementales ou des organismes d'accréditation.
- Ne pas utiliser les composants au-delà de leur date d'expiration.
- Eliminer les échantillons et les déchets de l'essai conformément aux règles de sécurité.sécurités locales.
-

- L'essai a été conçu pour minimiser les mutations possibles prochaines. Néanmoins, dans le cas où les souches circulantes évoluent et accumulent des mutations une mise à jour de l'ensemble des amorces/sondes pourraient être nécessaires.

8. Mode d'emploi

8.1 Extraction de l'ARN

L'ARN extrait constitue l'échantillon de départ pour le kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0. La qualité de l'ARN extrait a un impact significatif sur la performance de l'ensemble du test. Il est important de s'assurer que le système d'extraction des acides nucléiques utilisé est compatible avec la technologie de RT-PCR en temps réel.

Les systèmes d'extraction des acides nucléiques suivants sont recommandés:

- QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)

Si la préparation des échantillons s'effectue sur une colonne comportant des tampons de lavage à l'éthanol, une étape de centrifugation supplémentaire de 10 minutes à environ 17000 x g (~ 13000 tr/min), dans un nouveau tube à essai, est vivement recommandée avant l'élution des acides nucléiques.

NOTE

> ⚠ ***L'utilisation d'ARN porteur (carrier) est crucial pour l'efficacité de l'extraction et la stabilité des acides nucléiques extraits.***
>
> ⚠ ***L'éthanol est un fort inhibiteur de la PCR en temps réel. Si votre système de préparation des échantillons utilise des tampons de lavage à l'éthanol, assurez vous d'éliminer toute trace d'éthanol avant de procéder à l'élution des acides nucléiques.***

8.2 Préparation du Mastermix

Tous les réactifs doivent être complètement décongelés, homogénéisés (par pipetage ou léger vortexage) et brièvement centrifugés avant utilisation.

Le kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 contient un contrôle interne hétérologue pouvant être utilisé soit comme un contrôle d'inhibition de la PCR soit comme un contrôle de la préparation de l'échantillon (extraction des acides nucléiques) et de l'inhibition de la RT-PCR.

- Si le contrôle interne (IC) est utilisé comme un contrôle d'inhibition de la RT-PCR, mais pas comme un contrôle de préparation de l'échantillon, alors le Mastermix doit être préparé comme décrit par le schéma de pipetage ci-dessous:

Nombre de réactions (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	20 µl	240 µl
Contrôle interne	2.5 µl	30 µl
Volume Mastermix	**27.5 µl**	**330 µl**

- Si le contrôle interne est utilisé comme contrôle de préparation de l'échantillon, et d'inhibition de la RT-PCR, le contrôle interne doit être ajouté au moment de la procédure d'extraction des acides nucléiques.

- Quelque soit la méthode ou le système utilisé pour l'extraction des acides nucléiques., le contrôle interne (IC) **ne doit jamais** être ajouté directement à l'échantillon. Le contrôle interne doit toujours être ajouté au mélange échantillon/tampon de lyse. Le volume du contrôle interne à ajouter dépend toujours et uniquement du volume d'élution, dont il représente 10%. Par exemple si les acides nucléiques doivent être élués dans 60 µL de tampon d'élution ou d'eau, 6 µL du contrôle interne par échantillon doivent être ajoutés au mélange échantillon/tampon de lyse.

NOTE

> ⚠ ***Ne jamais ajouter le Contrôle Interne directement avec l'échantillon!***

- Si le IC a été ajouté pendant la phase de préparation de l'échantillon, le Mastermix doit être préparé selon le schéma de pipetage suivant:

Nombre de réactions (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	20 µl	240 µl
Volume Mastermix	**25 µl**	**300 µl**

8.4 Préparation de la réaction

- Pipeter 25 µL de Mastermix dans chacun des puits nécessaires de la plaque 96 puits ou d'un tube à essai permettant les réactions optiques.
- Ajouter 25 µL de l'échantillon (éluat issu de l'extraction des acides nucléiques) ou 25 µL des contrôles (contrôles positifs ou négatifs).
- Veiller à ce qu´au moins un contrôle positif et un contrôle négatif soient utilisés par essai.
- Homogénéiser avec soin les échantillons et les contrôles avec le Mastermix par pipetant.
- Couvrir la plaque de 96 puits avec un film adhésif transparent approprié et les tubes réactionnels à l'aide de couvercles appropriés.
- Centrifuger les plaques de 96 puits à l'aide d'un rotor à microplaques pendant 30 secondes à environ 1000 x g (~ 3000 tr/min).

Préparation de la réaction	
Mastermix	25 µl
Echantillon ou contrôle	25 µl
Volume totale	**50 µl**

9. Programmation des instruments de PCR en temps réel

Pour obtenir des informations générales sur la préparation et la programmation des différents instruments de PCR en temps réel, veuillez consulter les manuels d'utilisation des instruments respectifs. Pour des instructions sur la programmation relative à l'utilisation du kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 avec un instrument de PCR en temps réel spécifique, merci de contacter notre assistance technique.

9.1 Paramètres

- Définir les paramètres suivants:

Paramètres	
Volume de réaction	50 µL
Taux de rampe	par défaut
Référence passive	None

9.2 Marqueurs de fluorescence (fluorophores)

- Définir les marqueurs de fluorescence (fluorophores):

Détection	Nom du marqueur	Reporter	Quencher
ARN spécifique du virus West Nile	WNV	FAM	(aucun)
Contrôle interne	IC	JOE	(aucun)

9.3 Profil de température et acquisition du fluorophore

- Définir le profil de température et l'acquisition du fluorophore:

	Étape	Nombre cycles	Acquisition	Température	Durée
Transcription reverse	Station-naire[1]	1	-	50 °C	10:00 min
Dénaturation	Station-naire[1]	1	-	95 °C	2:00 min
Amplification	Cyclique[2]	45	-	95 °C	0:15 min
			√	55 °C	0:45 min
			-	72 °C	0:15 min

[1] hold, [2] cycling

10. Analyse des données

Pour des informations de base concernant l'analyse des données sur un instrument de PCR en temps réel spécifique, merci de se référer au manuel de l'instrument concerné. Pour des informations détaillées concernant l'analyse des données avec le kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 sur différents instruments de PCR en temps réel, merci de contacter notre support technique.

10.1 Validité du test de diagnostic

10.1.1 Test de diagnostic valide (qualitatif)

Pour qu'un test de diagnostic **qualitatif** soit **valide,** les valeurs suivantes des contrôles doivent être obtenues:

Nom du Contrôle	Canal de détection FAM	Canal de détection JOE
Contrôle positif	POSITIF	POSITIF
Contrôle négatif	NEGATIF	POSITIF

10.1.2 Test de diagnostic invalide (qualitatif)

Un test de diagnostic **qualtitatif** est **invalide**, (i) si l'essai n'est pas complet ou (ii) si les différentes conditions de contrôle pour un test de diagnostic valide ne sont pas remplies.

En cas d'**invalidité** du test de diagnostic, répéter le test avec les acides nucléiques purifiés restants ou recommencer depuis l'échantillon de départ.

10.2 Interprétation des résultats

10.2.1 Analyse qualitative

Échantillon	Canal de détection FAM	Canal de détection JOE	Interprétation des résultats
A	POSITIF	POSITIF*	ARN spécifique du WNV détecté.
B	NEGATIF	POSITIF	ARN spécifique du WNV non détecté. L'échantillon ne contient pas de quantités détectables d'ARN du WNV.
C	NEGATIF	NEGATIF	Inhibition de la PCR ou défaillance des réactifs. Répéter le test à partir de l'échantillon d'origine ou bien prélever et tester un nouvel échantillon.

* La détection du contrôle interne (IC) dans le canal de détection JOE n'est pas requise pour des résultats positifs dans le canal de détection FAM. De fortes charges en WNV dans l'échantillon peuvent conduire à des signaux absents ou très faibles pour le contrôle interne.

11. Evaluation des performances

L'évaluation des performances analytiques du kit kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 a été réalisée en utilisant des ARN quantifiés (transcrits *in vitro*).

11.1 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 est définie comme étant la concentration (copies par µL d'éluat) de molécules d'ARN spécifique du WNV qui peuvent être détectées avec un taux supérieur à ≥ 95%. La sensibilité analytique a été déterminée en analysant des dilutions en série d'une concentration définie en ARN quantifié transcrits *in vitro.*

Table 1: Résultats de PCR utilisés pour le calcul de la sensibilité analytique du système spécifique du WNV du kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0

[C] initiale [copies/µL]	Nombre de replicates	Nb de résultats positifs	Taux de succès [%]	Contrôle Interne
10	12	12	100.0	valide
3.16	12	12	100.0	valide
1.00	12	12	100.0	valide
0.316	12	9	75.0	valide
0.10	12	6	50.0	valid
0.05	12	6	50.0	valide
0.0316	12	2	16.6	valide
0.02	12	1	8.33	valide
0.01	12	0	0	valide
NTC	12	0	0	valide

La sensibilité analytique du kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0, déterminée par analyse Probit. Pour la détection de l'ARN spécifique du WNV la sensibilité analytique est de 0.67 copies/µL [intervalle de confiance à 95% (IC): 0.34 to 2.48 copies/µL].

11.2 Spécificité analytique

La spécificité analytique du kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 est assurée par une sélection minutieuse des oligonucléotides (amorces et sondes). Les séquences de ces derniers ont été comparées aux séquences publiques disponibles afin de s'assurer que toutes les souches intéressantes du virus West Nile seront détectées. La spécificité analytique du kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 a été évaluée en testant un panel d'ADN/ARN génomique extrait d`autres virus à partir d'autres Flavivirus, d'autres pathogènes transmissibles par le sang et de pathogènes causant des symptômes similaires.

Table 2: Organismes testés afin de démontrer la spécificité analytique du kit RealStar® RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0

	RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0	
Organismes	**Canal de détection FAM (WNV)**	**Canal de détection JOE (IC)**
West Nile Virus NY 11/07	Positif	Positif
West Nile Virus NY 99	Positif	Positif
West Nile Virus Uganda	Positif	Positif
Dengue Virus Type 1	Negatif	Positif
Dengue Virus Type 2	Negatif	Positif
Dengue Virus Type 3	Negatif	Positif
Dengue Virus Type 4	Negatif	Positif
Japanese Encephalitis Virus 4/7	Negatif	Positif
Hepatitis A Virus	Negatif	Positif
Hepatitis C Virus	Negatif	Positif
Hepatitis E Virus	Negatif	Positif
Murray Valley Encephalitis Virus	Negatif	Positif
St. Louis Encephalitis Virus	Negatif	Positif
Tick-borne Encephalitis Virus	Negatif	Positif
Usutu Virus	Negatif	Positif
Yellow Fever Virus	Negatif	Positif
Zika Virus	Negatif	Positif

11.3 Précision

Les données de précision du kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 ont été déterminées comme étant la variabilité intra-essai (variabilité au sein d'une expérience), la variabilité inter-essai (variabilité entre différentes expériences) et la variabilité inter-lot (variabilité entre différents lots de production).
Les données de variabilité sont exprimées en termes de valeur moyenne, d'écart-type, de variance et de coefficient de variation, sur la base des valeurs de cycle seuil (C_t). Au moins la variabilité intra-essai, la variabilité inter-essai et la variabilité inter-lot d'au moins six réplicats par échantillon ont été analysées. La variance totale a été calculée en combinant les trois analyses.

Tableau 3: Données de précision du kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0

Système spécifique du WNV	Cycle seuil moyen (C_t)	Ecart-type	Coefficient de Variation (%)
Variabilité intra-essai	28.17	0.1	0.35
Variabilité inter-essai	28.05	0.16	0.58
Variabilité inter-lot	28.19	0.31	1.09
Variance totale	28.13	0.23	0.81

Tableau 4: Données de précision du kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 pour le contrôle interne (valeur du cycle seuil C_t)

Contrôle interne (IC)	Cycle seuil moyen (C_t)	Ecart-type	Coefficient de Variation (%)
Variabilité intra-essai	29.25	0.22	0.74
Variabilité inter-essai	29.07	0.36	1.23
Variabilité inter-lot	29.08	0.37	1.26
Variance totale	29.11	0.34	1.15

12. Limitations et précautions

- L'utilisation de ces produits est limitée au personnel compétent et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic *in vitro*.
- Le respect des bonnes pratiques de laboratoire est essentiel pour garantir le bon fonctionnement de ce test. Une attention particulière doit être apportée à la préparation des échantillons afin de préserver la pureté des composants du kit. Tous les réactifs doivent faire l'objet d'une surveillance étroite afin d'éviter impuretés et contaminations. Tout réactif suspect doit être éliminé.
- Il est nécessaire de respecter les procédures de prélèvement, de transport, de conservation et de traitment des échantillons afin d'assurer les performances optimales du test.
- Ce test n'est pas destiné à être utilisé directement sur l'échantillon. Des méthodes appropriées d'extraction des acides nucléiques doivent être employées avant son utilisation.
- La présence d'inhibiteurs de PCR est susceptible d'entraîner des résultats faussement négatifs ou erronés.
- De potentielles mutations dans les zones cibles du génome du virus couvertes par l'amorce et/ou les sondes du test peuvent empêcher la détection de pathogènes.
- Le RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 est un test de diagnostic. En conséquence, ses résultats doivent être interprétés en prenant en considération l´ensembles des symptômes cliniques et des résultats obtenus en laboratoire.

13. Contrôle de qualité

Conformément au système de management de la qualité d'altona Diagnostics GmbH, certifié ISO EN 13485, chaque lot du RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 est testé selon des spécifications prédéfinies afin de garantir une qualité constante des produits.

14. Assistance technique

Pour obtenir une assistance sur nos produits, merci de contacter notre support technique:

e-mail: **support@altona-diagnostics.com**
téléphone: **+49-(0)40-5480676-0**

15. Marques déposées et responsabilité

RealStar® (altona Diagnostics GmbH); Mx 3005P™ (Stratagene); ABI Prism® (Applied Biosystems); HighPure®, LightCycler® (Roche); Rotor-Gene™, QIAamp® (QIAGEN); VERSANT™ (Siemens).

Les noms et marques déposés cités dans ce document, même si non mentionnés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

Le kit RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 est un kit de diagnostic *in vitro*, marqué CE conformément à la Directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs de diagnostic *in vitro*.

Produit distribué dans certains pays uniquement.

© 2015 altona Diagnostics GmbH; tous droits réservés.

16. Explications des symboles

IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
REF	Référence produit
LOT	Numéro de lot
	Contient la quantité suffisante pour réaliser „n“ tests (rxns)
	Limites de température
	Version
	À utiliser avant
	Attention
	Lire les instructions d’utilisation
	Fabricant

NOTES